AUTORADIOGRAPHISCHE BESTIMMUNG DES GENERATIONSZEITZYKLUS VON 1,2–DIMETHYLHYDRAZIN–INDUZIERTEN ADENOCARCINOMEN DES RATTENCOLON

Konstantin Boxler

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546027_0007

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Professor Dr. M. Eder

AUTORADIOGRAPHISCHE BESTIMMUNG DES GENERATIONSZEITZYKLUS VON 1,2-DIMETHYLHYDRAZIN-INDUZIERTEN ADENOCARCINOMEN DES RATTENCOLON

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Konstantin Boxler
aus Unterkammlach

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Schauer
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Eder
Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.7.1972

INHALTSÜBERSICHT

I. Einleitung

II. Material und Methodik

III. Auswertung der autoradiographischen Befunde:

1. Der Markierungsindex
2. Der Mitoseindex
3. Der Prozentsatz markierter Mitosen
4. Berechnung der Generationszeit und ihrer Teilphasen

IV. Ergebnisse

1. Mikroskopische und makroskopische Befunde
2. Proliferationskinetische Befunde

V. Diskussion

VI. Literaturnachweis

I. EINLEITUNG

Experimentelle Darmtumoren können durch chemisch unterschiedliche Substanzgruppen induziert werden, die z. T. erst während des letzten Jahrzehnts synthetisiert wurden. Dazu gehören Cycasin (Laqueur 1965), N-Methyl- und N-Aethyl-N- Nitrourethan (Schoental 1965 und 1967), 3,2-Dimethyl-4-aminodiphenyl (Cleveland und Cole 1969) sowie das 1967 erstmals von Druckrey et al. synthetisierte 1,2-Dimethylhydrazin.

Über Dimethylhydrazin-induzierte Darmtumoren bei Ratte (Druckrey et al. 1967, Schauer et al. 1969), Maus (Wiebecke, Löhrs, Gimmy und Eder 1969; Wiebecke, Löhrs, Brandts und Eder 1969) und Goldhamster (Osswald und Krüger 1969) berichteten inzwischen verschiedene Arbeitsgruppen unabhängig voneinander. Dabei wurden in morphologischen Untersuchungen neben hyperplastischen, adenomatösen und villösen Polypen nach längerer Versuchszeit Adeno- sowie diffus infiltrierend wachsende Siegelringzellcarcinome mit ausgedehnter Metastasierung festgestellt.

In enzymhistochemischen Untersuchungen wurde ein Ausfall der alkalischen Phosphatase in Dünndarmtumoren bei hoher Dosierung von 1,2-Dimethylhydrazin und Aktivitätserhöhung der Succinat-Dehydrogenase in Dünn- und Dickdarmtumoren in unterschiedlich großen Arealen nachgewiesen. Autoradiographisch wurde eine Verbreiterung der Wachstumszonen in der histologisch unauffälligen Schleimhaut des Dünn- und Dickdarms bei cancerisierten Tieren (Schauer, Völlnagel und Wildanger 1969) und Proliferationszentren in oberflächlichen Schichten bei adenomatösen und villösen Polypen beobachtet (Wiebecke et al. 1969; Oehlert et al. 1970).

Untersuchungen über die Generationszeitzyklen der aufgetretenen Tumortypen fehlten bisher. Deshalb wurde versucht, zunächst an den proliferationsaktiven Zonen von Adenocarcinomen solche Zyklusbestimmungen durchzuführen.

II. MATERIAL UND METHODIK

Die Untersuchungen wurden an 67 weiblichen Wistar-Ratten mit einem Ausgangsgewicht von 150-200 g durchgeführt. Die Tiere erhielten Wasser ad libitum und wurden bei Altromin-Standardkost im klimatisierten Tierstall bei 20-22 ^{o} C frei von pathogenen Keimen gehalten. 60 Tieren wurde 1,2-Dimethylhydrazin einmal wöchentlich 3 Monate lang in einer Dosis von 20 mg/kg KG subcutan verabreicht (Lösung von N,N-Dimethylhydrazin-dihydrochlorid der Fluka A.G., Buchs SG, Schweiz, in 1,0 N NaOH, Einstellung auf pH 6,25). Danach wurden die Tiere von der Behandlung abgesetzt. 7 Ratten dienten als Kontrollen. Getötet wurden die Tiere zwischen dem 175. und 300. Tag nach Beginn der Cancerisierung.

Die autoradiographischen Untersuchungen über die DNS-Synthese erfolgten mit ^{3}H-Thymidin-6-T (The Radiochemical Centre Amersham, spezifische Aktivität 5.000 mCi/mMol). Jeweils zwischen 8.00 - 9.00 Uhr wurde den Versuchstieren 0,3 mCi ^{3}H-TdR/100 g KG i.p. injiziert. Die radioaktive Versuchszeit betrug 30, 60, 90 Minuten bzw. 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 11 und 12 Stunden. Danach wurden zu den angegebenen Zeitpunkten jeweils 2-4 Tiere durch Decapitation getötet. Der gesamte Dickdarm wurde entnommen und 24 Stunden in 4 %igem Glutaraldehyd fixiert. Nach Paraffineinbettung wurden 5 μ dicke Schnitte hergestellt.

Vor Aufziehen des Stripping Films (Kodak AR 10) wurden die Objektträger in eine Chromalaungelatinelösung getaucht (0,5 g Gelatine, 0,05 g Chromalaun, 100 ml aqua dest.). Die Expositionszeit betrug bei 4^{o} C 8 Tage. Der Stripping-Film wurde

mit einer Lösung aus 1,8 g Amidol, 7,2 g Natriumsulfit, 3,2 g Kaliumbromid und 400 ml aqua dest. 20 Minuten bei völliger Dunkelheit entwickelt. Anschließend wurden die Filme 20 Minuten fließend gewässert, 40 Minuten mit einer 50 %igen wässrigen Natriumthiosulfatlösung fixiert und wiederum 1 1/2 Stunden fließend gewässert. Die Kerne wurden mit Hämalaun nach Mayer 12 Minuten gefärbt.

III. AUSWERTUNG DER AUTORADIOGRAPHISCHEN BEFUNDE

Zur Ermittlung des Generationszeitzyklus und seiner Teilphasen wurden in P r o l i f e r a t i o n s z e n t r e n von Adenocarcinomen, der umgebenden histologisch unauffälligen Schleimhaut und am Colonepithel von Kontrolltieren folgende Bestimmungen vorgenommen:

1. Der Markierungsindex (= ^{3}H-Index in %)

Zur Ermittlung des ^{3}H-Index bei einer radioaktiven Versuchszeit von 1 Stunde wurden 12 Ratten mit Adenocarcinomen und 7 Kontrolltiere verwendet. In den Carcinomen erfolgte die Bestimmung des ^{3}H-Index ausschließlich in stark markierten, relativ gut abgrenzbaren Proliferationszentren, wobei in den Randzonen am Übergang zu weniger stark markierten Bereichen nicht gezählt wurde. In der den Carcinomen benachbarten Colonschleimhaut und derjenigen von Kontrolltieren wurde der ^{3}H-Index von der Kryptenbasis bis zur obersten markierten Zelle eines Drüsenschlauches bestimmt (sog. korrigierter Markierungsindex). Pro Tier wurden jeweils 8.000 Zellen im Tumor bzw. der umgebenden Schleimhaut ausgezählt.

2. Der Mitoseindex (in %)

Die Anzahl der Mitosen wurde zusammen mit dem Markierungsindex nach einer radioaktiven Versuchszeit von 1 Stunde bestimmt. Gewertet wurden Mitosen im Stadium der Pro- bis Telophase.

3. Der Prozentsatz markierter Mitosen

Zu den jeweiligen, oben angeführten radioaktiven Versuchszeiten wurde von der Gesamtzahl der Mitosen der Prozentsatz der markierten festgestellt. Dabei wurden zwischen 300-500 Mitosen jeweils im Tumor, umgebenden Epithel und vergleichsweise in der Schleimhaut von Kontrolltieren ausgezählt.

4. Berechnung der Generationszeit und ihrer Teilphasen

A. Die Ermittlung der Dauer der DNS-Synthesezeit (Ts) in den Adenocarcinomen und ihrer Umgebung erfolgte nach der Methode der Prozent-markierten Mitosen. Der Abstand der Schnittpunkte der 50 %-Werte mit dem auf- und absteigenden Schenkel der Kurve gibt dabei die mittlere S-Phasendauer wieder (Quastler und Sherman 1959; Painter und Drew 1959; Lesch und Oehlert 1970).

B. Für die Dauer der mittleren Generationszeit (T) gilt:

$$T = \frac{(Ts)}{^{3}H\text{-Index}}$$

C. Für die Dauer der Mitose (M) gilt:

$$M = \frac{\frac{(Ts)}{^{3}H\text{-Index}}}{\text{Mitose-Index}}$$

D. Die G_1-Phase ergibt sich durch Subtraktion von Ts + (G_2 + M) von der Generationszeit.

E. Die postsynthetisch-praemitotische Phase (G_2) wurde zusammen mit der Mitosedauer (M) aus der Kurve der %-markierten Mitosen abgelesen = (G_2 + M). (Abstand zwischen Zeitpunkt 0 bis Erreichen einer 100 %igen Markierung).

IV. ERGEBNISSE

1. Mikroskopische und makroskopische Befunde

Bei Stop der Applikation von DMH nach 12 Wochen fanden sich nach Versuchszeiten zwischen 175-300 Tagen bei nahezu allen Tieren makroskopisch sichtbare, multiple, unterschiedlich große, z. T. exulcerierte Tumoren im Dick- und Dünndarm, die exophytisch wuchsen und das Darmlumen stenosierten. Bei 5 Tieren wurden keine Tumoren festgestellt. Bei den langen Induktions- bzw. Latenzzeiten traten gehäuft histologisch infiltrierend wachsende Adenocarcinome auf (bei 40 von 60 Tieren). Daneben wurden bei den gleichen Tieren oft gleichzeitig hyperplastische oder adenomatöse Polypen in wechselnder Anzahl gefunden (siehe Tabelle 1).

Anzahl der Tiere	Tumortypen
34	Adenocarcinom
2	Adenocarcinom + adenomatöse Polypen
4	Adenocarcinom + Siegelringzellcarcinom
3	Siegelringzellcarcinom
2	Siegelringzellcarcinom + adenomatöse Polypen
10	adenomatöse Polypen
5	keine Tumoren

Tabelle 1: Verteilung der verschiedenen Tumortypen

Siegelringzellcarcinome mit z. T. massiver Peritoneal-Carcinose und Lungenmetastasen wurden bei insgesamt 9 Tieren nachgewiesen. Bei allen Tieren wurde einer Hyperplasie von Lymphfollikeln sowie eine diffuse oder herdförmige chronisch entzündliche Infiltration der Mucosa und Submucosa beobachtet.

Bei 6 Tieren fanden sich mesenchymal-epitheliale Nierentumoren.

2. Proliferationskinetische Befunde

Nach Applikation von ^{3}H-TdR finden sich am Colon von Kontrolltieren markierte Zellkerne im unteren basisnahen Drittel längsgeschnittener Zotten, in der sogenannten Indifferenzzone. Auszählungen der markierten Kerne in dieser Wachstumszone ergaben einen korrigierten ^{3}H-Index von 24,2 %.

Die Adenocarcinome zeigten proliferationskinetisch ein sehr unterschiedliches Verhalten; im gleichen Carcinom konnten Areale mit sehr niedrigem (unter 5 %) neben solchen mit sehr hohem Markierungsindex (bis 52 %) festgestellt werden. Diese Proliferationszonen lagen oft oberflächennah; durchschnittlich betrug der ^{3}H-Index hier 37,5 % (Tabelle 2). Regelmäßig war die Markierung des adenomatösen Tumors höher als die der diffus infiltrierend wachsenden Siegelringzellcarcinome. In der den Tumoren benachbarten histologisch weitgehend unauffälligen Schleimhaut betrug der ^{3}H-Index 23,3 % (Tabelle 2) und ließ somit keinen signifikanten Unterschied zur Colonschleimhaut der Kontrolltiere erkennen.

Die Bestimmung der Anzahl markierter Mitosen nach verschieden langer radioaktiver Versuchszeit ergab, daß in den Adenocarcinomen nach 90 Minuten 20 % und nach 3 Stunden über 90 % der Mitosen markiert waren (Abbildung 3 und 4). Nach 9 Stunden nahm die Zahl der markierten Mitosen ab und erreichte nach 11 Stunden ihren tiefsten Wert. Der Verlauf der Prozent-markierten Mitosekurve für die umgebende Schleimhaut war nahezu deckungsgleich mit derjenigen, die für die Adenocarcinome ermittelt wurde.

Die Dauer der DNS-Synthesezeit betrug 8 Stunden beim Carcinom und 7,9 Stunden bei der umgebenden Schleimhaut. $(G_2 + M)_{max}$ wurde bei Zugrundelegung des 90 %-Wertes mit 3 Stunden ermittelt.

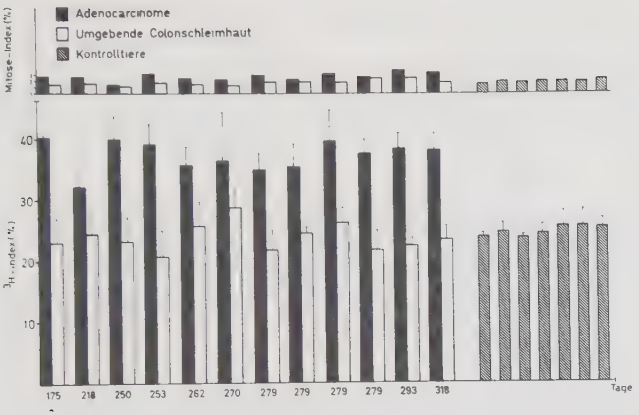

Abb. 1: ^{3}H-Thymidin-Index in Proliferationszonen von Adenocarcinomen des Colon, benachbarter Schleimhaut und Colonschleimhaut von Kontrollratten gleichen Alters und Gewichtes mit Angabe der Standardabweichung. Über den Kolumnen Angabe des jeweiligen Mitose-Index.

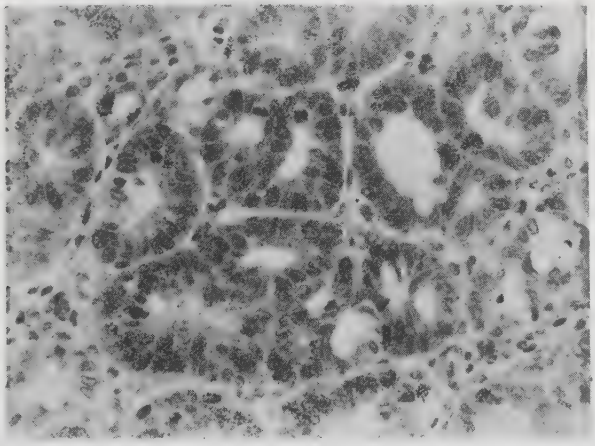

Abb. 2: Anteile eines differenzierten Adenocarcinoms des Colon mit hohem ^{3}H-Thymidin-Index und mehreren nichtmarkierten Mitosen, 1 Stunde nach i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin-6-T.
279. Versuchstag. Vergrößerung 540-fach.

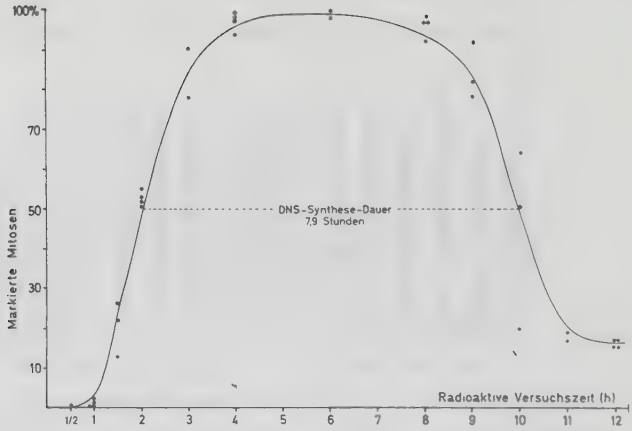

Abb. 3: Prozentsatz markierter Mitosen von Adenocarcinomen des Colons (Proliferationszentren).

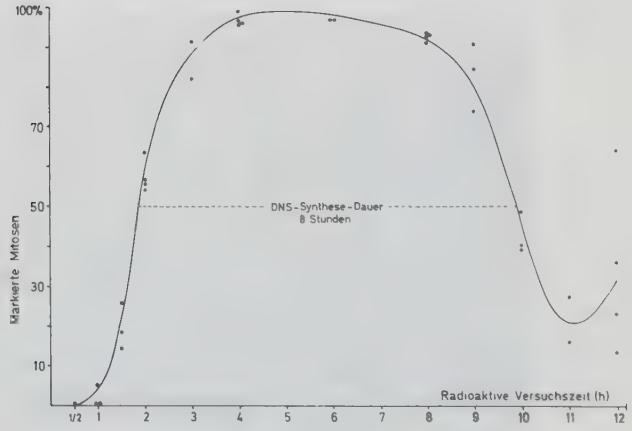

Abb. 4: Prozentsatz markierter Mitosen der Colonschleimhaut von Kontrolltieren (= "Prozent-markierte Mitosen-Kurve").

	G_1 (h)	T_s (h)	$(G_2+M)_m$ (h)	T_{cm} (h)	^{3}H-Index mit S.A. %
Adenocarcinom	11,5	7,9	ca. 2	21,4	37,5 ± 4,1
Umgebende Colonschleimhaut	22,3	8,0	ca. 2	32,3	23,9 ± 3,1

Tabelle 2: Mittlere Generationszeit (T_{cm}) sowie Einzelphasen des Generationszeitzyklus vom Adenocarcinomzellen des Rattencolon im Vergleich zur umgebenden Schleimhaut (T_s = DNS-Synthesezeit, S.A. = Standardabweichung)

Die mittlere Generationszeit (T_{cm}) wurde im Adenocarcinom mit 21,5 Stunden, in der umgebenden Schleimhaut mit 32,3 Stunden ermittelt. Die signifikante Verkürzung der Generationszeit im Carcinom muß bei etwa gleichbleibender Dauer der DNS-Synthesezeit und von $(G_2+M)_{max}$ durch Verkürzung der G_1-Phase auf etwa die Hälfte der Zeit verursacht werden. Die errechnete Mitosedauer stimmte im Carcinom und der umgebenden Schleimhaut mit 37 Minuten bzw. 35 Minuten nahezu völlig überein.

V. DISKUSSION

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß nach fortdauernder wöchentlicher subcutaner Applikation von 1,2-Dimethylhydrazin bereits nach 104 Versuchstagen Darmtumoren bei der Ratte auftraten (Schauer, Völlnagel und Wildanger 1969). Bei ähnlichen Untersuchungen an der Maus (15 mg/kg/Woche DMH, bis zu 15-maliger Applikation) zeigten sich die ersten Tumoren am Colon nach 140 Tagen (Wiebecke, Löhrs, Gimmy und Eder 1969). Dabei wurde eine Klassifizierung der entstandenen Dickdarmpolypen in adenomatöse und villöse vorgenommen (Wiebecke, Löhrs, Brandts und Eder 1969; Schauer, Völlnagel und Wildanger 1969).

Die eigenen Untersuchungen ergaben, daß nach 12-wöchiger parenteraler Applikation von 20 mg/kg/Woche Dimethylhydrazin und anschließender langdauernder Absetzungsperiode häufiger infil-

trierend wachsende Adenocarcinome - neben hyperplastischen, adenomatösen und vereinzelt auch villösen Polypen - zu beobachten war, als nach kurzer Induktionszeit. Da in der vorliegenden Arbeit der Generationszeitzyklus an A d e n o - c a r c i n o m e n bestimmt werden sollte, wurden die Tiere erst nach langer Versuchszeit (175.-300. Tag) getötet, um eine möglichst hohe Ausbeute an Carcinomen zu erreichen.

Zur Beurteilung der Proliferationsaktivität in der Colonschleimhaut von Kontrolltieren, in Adenocarcinomen bzw. in der benachbarten Schleimhaut wurde der ^{3}H-Index bei einer radioaktiven Versuchszeit von 1 Stunde bestimmt. Dabei ergab sich, daß die Markierung im gleichen Carcinom starke Unterschiede aufwies: Neben herd- oder bandförmigen, relativ gut abgrenzbaren Arealen mit sehr hoher Markierung konnten auch große Bereiche mit außerordentlich niedrigem ^{3}H-Index festgestellt werden. Regelmäßig konnten Proliferationszonen in oberflächlichen Schichten der Adenocarcinome beobachtet werden. Die Verlagerung von Wachstumszentren an die Tumoroberfläche wurde auch für adenomatöse und villöse Polypen beschrieben (Cole und Mc Kalen 1963; Eder 1969; Wiebecke und Mitarbeiter 1969; Schauer, Völlnagel und Wildanger 1969; Springer, Springer und Oehlert 1970).

Die Auszählung in der den Tumor umgebenden Schleimhaut wurde mit der Fragestellung vorgenommen, ob sich in der nicht neoplastisch veränderten Schleimhaut ein Effekt des lange abgesetzten Cancerogens auf die Proliferationskinetik feststellen läßt. Nach einmaliger Injektion von 1,2-Dimethylhydrazin bei der Maus wurden im Dickdarm cytotoxische Zellschädigungen in Form von pyknotischen Epithelzellen festgestellt. Kurze Zeit darauf kam es zu einem vorübergehenden Anstieg der relativen Zahl der ^{3}H-markierten Zellen sowie der mitotischen Aktivität (Löhrs, Wiebecke und Eder 1969). In den vorliegenden Untersuchungen konnte nach der langen Absetzungszeit histologisch - wie zu erwarten - keine toxische Wirkung des Cancerogens mit Vermehrung von pyknotischen Zellen festgestellt werden. Autoradiographisch wurde dagegen in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Springer, Springer und Oehlert 1970; Völlnagel 1971) eine Verbreiterung der Proliferations-

zone bei Verlängerung der Zotten nachgewiesen werden. Der korrigierte ^{3}H-Index betrug in der dem Tumor benachbarten Schleimhaut 23,3 %. Es bestand somit gegenüber Kontrolltieren mit einem korrigierten ^{3}H-Index von 24 % kein signifikanter Unterschied.

Die Bestimmung der DNS-Synthesezeit wurde nach der Prozentmarkierten-Mitosen-Methode vorgenommen, da das Doppelmarkierungsverfahren bei dem hohen Markierungsindex im Colon eine exakte Unterscheidung der ^{14}C- bzw. stark oder schwach ^{3}H-markierten Kerne nicht zuließ. Ein weiterer Vorteil der Mitosen-Methode besteht darin, daß mit ihr die Generationszeit auch in exponentiell wachsenden Zellpopulationen bestimmt werden kann. Voraussetzung hierfür ist allerdings die Kenntnis der Growth-Fraction in der betreffenden Zellpopulation, für die die Generationszeit bestimmt werden soll. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb nur die durch den hohen ^{3}H-Index sichtbaren Wachstumszentren qualitativ ausgewertet, wobei angenommen wurde, daß in den genannten Bereichen nahezu alle Zellen am Wachstum teilnehmen. Verglichen wurden die Proliferationszentren der Adenocarcinome mit den Proliferationszentren (korrigierter Markierungsindex!) der umgebenden Colonschleimhaut. Inwieweit die gewonnenen Ergebnisse repräsentativ für den Gesamttumor sind, kann aus den vorliegenden Untersuchungen nicht beantwortet werden, da die Growth-Fraction z. B. durch wiederholte Einzelinjektionen oder mehrstündige Dauerinfusionen von ^{3}H-Thymidin nicht ermittelt wurde.

Unter Berücksichtigung der angeführten Einschränkungen ergibt sich eine Verkürzung der Generationszeit im Adenocarcinom um etwa 1/3 gegenüber der benachbarten Colonschleimhaut. Dieses Ergebnis stimmt mit einer erheblichen Verkürzung der Generationszeit bei anderen Tumoren überein, z. B. bei Methylcholanthren-induzierten Hautcarcinomen der Haus (Doermer, Tulinius und Oehlert 1964) und beim Bronchialcarcinom der Ratte (Dontenwill 1968). Bei der Analysierung der Teilphasen des Generationszeitzyklus fallen nahezu deckungsgleiche Prozentmarkierte-Mitosen-Kurven der Adenocarcinome und der umgebenden Schleimhaut und damit Konstanz von S + G_2 + M auf. Eine

wurde auch bei anderen Tumoren immer wieder festgestellt. (Hempel 1968; Übersicht siehe B. Schultze im Handbuch der Pathologie). Die nachgewiesene unterschiedlich lange Zeitdauer der Generationszeit sind bei Konstanz von S + G_2 + M durch Verkürzung der G_1-Phase im Adenocarcinom auf etwa die Hälfte der Zeit im Vergleich zur umgebenden Colonschleimhaut bedingt. Dieser Befund überrascht nicht, da die postmitotisch-praesynthetische sogenannte Differenzierungsphase (Oehlert 1970) gegenüber endogenen und exogenen Noxen als besonders sensibel und regulierbar angesehen wird. Dabei kann die zeitliche Variabilität der G_1-Phase bis zu einem Faktor von 200 schwanken (Lennartz 1969).

Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, ob adenomatöse und villöse Polypen einen im Vergleich zu den Adenocarcinomen unterschiedlichen Generationszeitzyklus haben oder ob es in den Polypen Areale mit einem von der Umgebung abweichenden Zyklus gibt, aus dem auf eine maligne Entartung geschlossen werden kann.

Unbeantwortet bleibt auch die für die Entstehung menschlicher Darmtumoren wichtige Frage, warum nach Applikation von 1,2-Dimethylhydrazin bei niedriger Dosierung Tumoren fast ausschließlich im Colon auftreten und erst nach hoher Gesamtdosis auch Tumoren im Dünndarm zu beobachten sind. Dieser Befund ist deshalb überraschend, da der Dünndarm bei Mensch und Tier regeneratorisch wesentlich aktiver ist als der Dickdarm. (Eder 1966; Cairnie, Lamerton und Steel 1965).

Neben Darmtumoren wurden nach langer Versuchszeit unregelmäßig auch große Hepatome beobachtet. Als Vorläufer dieser Lebertumoren sind frühauftretende, inselförmige Enzymdefektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatasen anzusehen wie sie auch nach Verabreichung von Diaethylnitrosamin und Dibutylnitrosamin beobachtet wurde (Schauer und Kunze 1968; Kunze, Schauer und Azami 1970). Dies könnte ein Hinweis dafür sein, daß das 1,2-Dimethylhydrazin zunächst in der Leber metabolisiert und in die eigentliche cancerogene Verbindung umgewandelt wird. Der Nachweis von Nierentumoren nach langen Versuchszeiten steht in Übereinstimmung mit ähnlichen Befunden nach Applika-

tion des ebenfalls Darmtumoren-induzierenden Cycasins (Gusek, Buss und Laqueur 1967; Gusek und Mestwerdt 1969) und des hepatocarcinogenen Diaethyl- und Dimethylnitrosamins (Mc Lean und Magee 1970; Hard und Butler 1970; Rabes, Hartenstein und Gminder 1971).

ZUSAMMENFASSUNG

60 weibliche Wistar-Ratten erhielten zur Erzeugung von Darmtumoren einmal wöchentlich 3 Monate lang 20 mg 1,2-Dimethylhydrazin/kg subcutan injiziert. Bei 39 Ratten wurde nach Versuchszeiten zwischen 175 und 300 Tagen der Generationszeitzyklus in Proliferationszentren von Adenocarcinomen des Colon und vergleichsweise in der umgebenden, histologisch unauffälligen Schleimhaut nach der Prozent-markierten-Mitose-Methode unter Berücksichtigung des sogenannten korrigierten Markierungsindex bestimmt.

Es ergab sich, daß die mittlere Generationszeit in den Proliferationszonen der Adenocarcinome etwa ein Drittel derjenigen der umgebenden Colonschleimhaut betrug. Diese Verkürzung des Generationszeitzyklus wird bei etwa gleichlang bleibender Dauer von der DNS-Synthesezeit durch Verkürzung der G_1-Phase auf etwa die Hälfte der Zeit verursacht. Die errechnete Mitosedauer stimmte im Carcinom und der umgebenden Schleimhaut weitgehend überein (37 bzw. 35 Minuten).

Die Beobachtung, daß in Proliferationszentren von Adenocarcinomen des Rattencolon die postmitotische praesynthetische Phase des Generationszeitzyklus im Vergleich zur umgebenden Schleimhaut verkürzt ist, stimmt mit Befunden über die Generationszeit verschiedener anderer, durch Cancerogene induzierten Tumoren überein.

LITERATURVERZEICHNIS

CAIRNIE, A. B., L. F. LAMERTON and C. G. STEEL: Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat.

Experimental Cell Research 39, 528 - 538 (1965)

CASTRUP, H. J., U. LÖHRS und M. EDER: Autoradiographische und histochemische Untersuchungen zur Entstehung der sogenannten urämischen Enterocolitis.

Path. Anat. 319, 357 - 367 (1970)

CLEVELAND, J. C. and J. W. COLE: Relationship of experimentally induced intestinal tumors to laxative ingestion.

Cancer 23, 1200 - 1203 (1969)

COLE, J. W. and A. MCKALEN: Studies on the morphogenesis of adenomatous polyps in the human colon.

Cancer 16, 998 - 1002 (1963)

DÖRMER, P., H. TULINIUS und W. OEHLERT: Untersuchungen über die Generationszeit, DNS-Synthesezeit und Mitosedauer von Zellen der hyperplastischen Epidermis und des Plattenepithelcarcinoms der Maus nach Methylcholanthrenpinselung.

Z. f. Krebsforschung 66, 11 - 28 (1964)

DONTENWILL, W., H. ELMHORST, G. RECKZEH, H. P. HARKE und L. STADLER: Experimentelle Untersuchungen über Aufnahme, Abtransport und Abbau cancerogener Kohlenwasserstoffe im Bereich des Respirationstraktes.

Z. f. Krebsforschung 71, 225 - 243 (1968)

DRUCKREY, H., A. SCHIDRACH, D. SCHMAHL, R. PREUSSMANN und S. IVANCOVIC: Quantitative Analyse der carcinogenen Wirkung von Diäthylnitrosamin.

Arneimittelforschung 13, 814 (1963)

DRUCKREY, H.: Referat - Deutscher Krebskongreß 1968

DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, F. MATZKIES und S. IVANCOVIC: Selektive Erzeugung von Darmkrebs bei Ratten durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Naturwissenschaften 54, 285 - 286 (1967)

EDER, M.: Zellerneuerung im Magen-Darmtrakt.

Verhandl. Dtsch. Ges. Path. 50, 75 (1966)

EDER, M.: Neuere morphologische Aspekte der Magen-Darmtumoren.

Fortschritte d. Krebsforschung, Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York, 1969

GUSEK, W., H. BUSS und G. L. LAQUEUR: Histologisch-histochemische Untersuchungen am "Interstitiellen Cycasin-Tumor" der Rattenniere.

Beitr. path. Anat. 135, 53 - 74 (1967)

GUSEK, W. und W. MESTWERDT: Cycasin-induzierte Nierentumoren bei der Wistarratte unter besonderer Berücksichtigung der Adenome.

Beitr. path. Anat. 139, 199 - 218 (1969)

HARD, G. C. and W. BUTLER: Cellular analysis of renal neoplasia: Induction of renal tumors in dictary-conditioned Rats by Dimethylnitrosamine with a reappraisal of morphological characteristics.

Cancer Research 30, 2796 - 2805 (1970)

HELPAP, B. und W. MAURER: H^3-Thymidin-Einbau unter in vivo und in vitro Bedingungen an Geweben von Maus und Ratte.

Naturwissenschaften 62, 520 (1967)

HEMPEL, K.: Analyse des Zellcyclus der Melanocyten des Harding-Passey-Melanoms der Maus unter besonderer Berücksichtigung der "Growth-Fraction".

Virchows Arch., Abt. B., Zellpath. 1, 15 - 30 (1968)

KUNZE, E., A. SCHAUER und M. A. AZAMI: Zur Histochemie Butylbutanol-nitrosamin-induzierter Harnblasencarcinome.

Naturwissenschaften 57, 310 - 311 (1970)

FEAUX DE LACROIX, W., U. LÖHRS, K. J. LENNARTZ und M. EDER: DNS-Synthesezeit und mittlere Generationsdauer der Mammaepithelien der Ratten in Abhängigkeit vom Brunstzyklus.

Naturwissenschaften 57, 308 - 309 (1970)

LAQUEUR, G.: The induction of intestinal neoplasma in rats with the glycoside Cycasin and its Aglycone.

Virchows Arch. path. Anat. 340, 151 - 163 (1965)

KRUEGER, F. W., H. OSSWALD, G. WALKER und E. SCHELTEN: Untersuchungen zur Organotropie der alkylierenden Wirkung von Dimethylnitrosamin (DMNA) und Nitrosomethylharnstoff (NMH) in vivo.

Z. f. Krebsforschung 74, 434 - 447 (1970)

LIEB, L. M. and H. LISCO: In vitro uptake of tritiated thymidine by carcinoma of the human colon.

Cancer Research 26, 733 - 740 (1966)

LEAVER, D. D., P. F. SWANN and P. N. MAGEE: The induction of tumors in the rat by a single oral dose of N-Nitrosomethylurea.

Brit. J. Cancer 23, 177 (1969)

LENNARTZ, K. J. und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdoppelung und der Generationszeit beim Ehrlich-Ascites-Tumor der Maus durch Doppelmarkierung mit ^{14}C-^{3}H-Thymidin.

Z. f. Krebsforschung 63, 478 - 495 (1964)

LENNARTZ, K. J., W. MAURER und M. EDER: Autoradiographische Untersuchung über die Dauer der DNS-Verdoppelung und die Generationszeit bei Ascitestumoren (Maus) mit unterschiedlichen Chromosomen-Stammlinien und von verschiedener Abstimmung.

Z. f. Krebsforschung 71, 267 - 282 (1968)

LENNARTZ, K. J., W. MAURER und M. EDER: Auswertungsverfahren bei Doppelmarkierung mit C^{14}- und H^3-Thymidin für exponentielles Wachstum.

Histochemie 13, 84 - 90 (1968)

LENNARTZ, K. J., W. MAURER und M. EDER: Autoradiographische Untersuchung über die Dauer der DNS-Verdoppelung und die Generationszeit bei Ascitestumoren (Maus) mit unterschiedlichen Chromosomenstammlinien und von verschiedener Abstammung.

Z. f. Krebsforschung 71, 267 - 2 (1968)

LENNARTZ, K. J.: Proliferationskinetik von Tumorzellen. Fortschr. Krebsforschung, Molekularbiologie, Wachstum, Klinik.

Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York (1969)

LESCH, R. und W. OEHLERT: Autoradiography.

Beitr. path. Anat. 141, 293 - 297 (1970)

LOHRS, U., WIEBECKE, B. und M. EDER: Morphologische und autoradiographische Untersuchung der Darmschleimhautveränderungen nach einmaliger Injektion von 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 151, 297 - 307 (1969)

MCLEAN, A. E. M. and P. N. MAGEE: Increased renal carcinogenesis by Dimethylnitrosamine in protein deficient rats.

Brit. J. exp. Path. 51, 587 - 590 (1970)

OEHLERT, W., N. SEEMAYER und P. LAUF: Autoradiographische Untersuchungen über den Generationszeitzyklus der Zellen des Ehrlich-Ascitescarcinoms der weißen Maus.

Beitr. path. Anat. 127, 63 - 78 (1962)

OEHLERT, W.: Regeneration, Hyperplasie, Cancerisierung epithelialer Gewebe.

Handbuch Allg. Pathologie, Band 6/II (1969)

OSSWALD, H. und F. W. KRUEGER: Die cancerogene Wirkung von 1,2-DMH beim Goldhamster. Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg.

Arzneimittel Forsch. (Drug Res.) 19, 1891 - 1892 (1969)

PAINTER, R. B. and R. W. DREWS: Studies on desoxyribonucleic acid metabolism in human cancer cell culture (HeLa).

Lab. Invest. 8, 278 - 285 (1959)

PILGRIM, Ch. und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS-Verdoppelungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit H^3- und C^{14}-Thymidin.

Exptl. Cell Res. 37, 183 - 199 (1965)

PILGRIM, Ch., K. J. LENNARTZ, K. WEGENER, S. HOLLWEG und W. MAURER: Autoradiographische Untersuchung über tageszeitliche Schwankungen des H^3-Index und des Mitoseindex bei Zellarten der ausgewachsenen Maus, des Ratten-Fetus sowie bei Ascites-Tumoren.

Z. Zellforschung 68, 138 - 1 (1965)

QUASTLER, H. and F. G. SHERMAN: Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse.

Exptl. Cell Research 17, 420 - 438 (1959)

RABES, H., R. HARTENSTEIN und J. GMINDER: Nierentumoren durch Diaethylnitrosamin bei partiell hepatektomierten Ratten.

Naturwissenschaften 58, 102 - 103 (1971)

SCHAUER, A. und E. KUNZE: Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diaethylnitrosamin.

Z. f. Krebsforschung 70, 252 - 2 (1968)

SCHAUER, A. VÖLLNAGEL, TH. und F. WILDANGER: Cancerisierung des Rattendarms durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 150, 87 - 93 (1969)

SCHAUER, A., TH. VÖLLNAGEL und F. WILDANGER: Morphologische und histochemische Untersuchungen bei der Cancerisierung der Darmschleimhaut der Ratte durch 1,2-Dimethylhydrazin (DMH).

Verhandl. d. Deutsch. Ges. f. Path. 53, 234 - 236 (1969)

SCHULTZE, B.: Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel im Autoradiogramm.

Handbuch Allg. Pathologie, Band II/5, Springer_Verlauf, Berlin-Heidelberg, New York, 1968

SCHOENTAL, R.: Induction of intestinal tumors by N-ethyl-N-nitros-urethanes.

Nature (London) 208, 300 (1965)

SCHOENTAL, R. and J. BENSTED: Tumors of the intestine induced in rats by intraperitoneal injections of N-methyl- and N-ethyl-N-nitroso-urethanes.

Brit. J. Cancer 22, 316 - 323 (1968)

SPRINGER, P., SPRINGER, J. und W. OEHLERT: Die Vorstufen des 1,2-Dimethylhydrazin-induczierten Dick- und Dünndarmcarcinoms der Ratte.

Z. f. Krebsforschung 74, 236 - 240 (1970)

VOLLNAGEL, TH., F. WILDANGER und A. SCHAUER: Enzymhistochemische Untersuchungen am Rattendarm während der Cancerisierung durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 151, 2 8 - 213 (1969)

WEGENER, K., S. HOLLWEG und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdoppelung und der Generationszeit bei fetalen Zellen der Ratte.

Naturwissenschaften 24, 738 - 739 (1963)

WIEBECKE, B., U. LÖHRS, J. GIMMY und M. EDER: Erzeugung von Darmtumoren bei Mäusen durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 149, 277 - 278 (1968)

WIEBECKE, B., U. LÖHRS, A. BRANDTS und M. EDER: Vergleichende tierexperimen elle und bioptische Untersuchungen zur Morphogenese der Dickdarmpolypen.

Verhandl. Dtsch. Ges. f. Path. 53, 239 - 243 (1969)

SCHULTZE, B.: Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel im Autoradiogramm.

Handbuch Allg. Path., Band II/5, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York (1968)

SCHOENTAL, R.: Induction of intestinal tumors by N-ethyl-N-nitroso-urethanes.

Nature (London) 208, 300 (1965)

SCHOENTAL, R. and J. BENSTED: Tumors of the intestine induced in rats by intraperitoneal injections of N-methyl- and N-ethyl-N-nitroso-urethanes.

Brit. J. Cancer 22, 316 - 323 (1968)

SPRINGER, P., SPRINGER, J. und W. OEHLERT: Die Vorstufen des 1,2-Dimethylhydrazin-induzierten Dick- und Dünndarmcarcinoms der Ratte.

Z. f. Krebsforschung 74, 236 - 240 (1970)

VÖLLNAGEL, TH., F. WILDANGER und A. SCHAUER: Enzymhistochemische Untersuchungen am Rattendarm während der Cancerisierung durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 151, 208 - 213 (1969)

WEGENER, K., S. HOLLWEG und W. MAURER: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdoppelung und der Generationszeit bei fetalen Zellen der Ratte.

Naturwissenschaften 24, 738 - 739 (1963)

WIEBECKE, B., U. LÖHRS, J. GIMMY und M. EDER: Erzeugung von Darmtumoren bei Mäusen durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 149, 277 - 278 (1968)

WIEBECKE, B., U. LÖHRS, A. BRANDS und M. EDER: Vergleichende tierexperimentelle und bioptische Untersuchungen zur Morphogenese der Dickdarmpolypen.

Verhandl. Dtsch. Ges. f. Path. 53, 239 - 243 (1969)

WIEBECKE, B., R. HEYBOWITZ, U. LÖHRS und M. EDER: Der Einfluß des Hungers auf die Proliferationskinetik der Dünn- und Dickdarmschleimhaut der Maus.

Virchows Arch., Abt. B. Zellpath. 4, 164 - 175 (1969)

WIEBECKE, B., U. LÖHRS, J. GIMMY und M. EDER: Erzeugung von Darmtumoren bei Mäusen durch 1,2-Dimethylhydrazin.

Z. ges. exp. Med. 149, 277 - 278 (1969)

Herrn Professor Schauer danke ich für die Überlassung der Arbeit.

Herrn Dr. Kunze möchte ich dafür danken, daß er mir stets mit Rat und Tat zur Verfügung stand.

Fräulein Calvör und Fräulein Vondraceck sei für die stets freundliche Zusammenarbeit gedankt.

LEBENSLAUF

Am 26. November 1943 wurde ich als Sohn des Schneidermeisters Anton Boxler und dessen Ehefrau Monika, geb. Kohler in Unterkammlach geboren.

Von 1949 bis 1954 besuchte ich die Volksschule in Unterkammlach Kreis Mindelheim, anschließend bis 1963 die Oberrealschule in Mindelheim.

Nach 2-jähriger Bundeswehr-Dienstzeit begann ich ab Wintersemester 1965/66 mit dem Studium an der philosophischen Fakultät der Universität München, ab Wintersemester 1966/67 studierte ich Medizin.
1967 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab und 1968 die ärztliche Vorprüfung.